

Botulism hos svenska hästar

Botulism in Swedish horses

Jenny Bergold

Handledare: Katarina Nostell

Inst. för: Kliniska Vetenskaper

Summary

Botulism is a serious disease with high mortality that can affect horses. Due to this about 20-30 percent of the horses in Sweden are vaccinated against botulism.

The purpose of this study was to see how common botulism is in the Swedish horse population and to see if a connection between feeding with haylage and botulism could be seen. In addition to this, the study aimed to find how common vaccination against botulism is among Swedish horses and on what grounds the diagnosis of botulism is made.

Medical records of horses being diagnosed with botulism at all the major large animal hospitals in Sweden between 1995-2005 were searched. In addition to this the database where general practitioners report their cases as well as the cases with botulism reported to the insurance companies were included.

The results of this study show that only 0,03 percent of the Swedish horse population has been diagnosed with botulism during the time period this study covers. In all the cases included in this study the diagnosis was made based on clinical signs and in none of the cases verification by isolating the toxin was possible.

In all cases where forage is noted in the journals the horse has been fed haylage which indicates that there is a connection between the use of haylage and botulism.

Three horses died despite being partially vaccinated against botulism type B which indicates that a correct vaccination has to be done before the horse gets any protection or that the correct diagnosis was not botulism type B.

Sammanfattning

Botulism är en sjukdom med hög mortalitet som drabbar häst. En riskfaktor för att insjukna i botulism är utfodring med hösilage. Då hösilage är ett grovfoder som ofta används till svenska hästar är profylax i form av vaccinering relativt vanligt förekommande. Syftet med den här studien var att studera hur vanligt förekommande botulism är hos den svenska hästpopulationen samt att se om en koppling till användning av hösilage gick att finna. Ett ytterligare syfte var att finna hur stor andel av hästarna i Sverige som vaccineras mot botulism.

Resultatet av denna studie talar för att risken att drabbas av botulism är väldigt låg, enbart 0,03 % av Sveriges hästpopulation har drabbats under de granskade åren. I samtliga fall som inkommit till djursjukhus har diagnosen ställts kliniskt och inte i något av de fall där diagnosen har försökt verifierats genom påvisande av toxin har man lyckats.

I samtliga fall där foder finns angivet i journalen har ägaren uppgivit att patienten utfodrats med hösilage vilket talar för att en koppling finns mellan utfodring med hösilage och den kliniska misstanken botulism.

Tre individer dog trots att en grundvaccinering mot botulism typ B var påbörjad vilket talar för att en fullständig vaccinering krävs innan skydd uppnås eller att orsaken inte var botulinumtoxin typ B.

Innehållsförteckning

1.	Introduktion.....	1
1.1	Etiologi.....	1
1.2	Smittvägar	2
1.3	Klinisk symptom-bild.....	3
1.4	Diagnos.....	3
1.5	Behandling.....	4
1.6	Profylax	4
2.	Mål.....	5
3.	Material och metoder	5
4.	Resultat	5
4.1	Antal fall.....	6
4.2	Prognos för överlevnad	7
4.3	Kliniska fynd	7
4.3.1	Blodbildsförändringar	7
4.3.2	Foder.....	8
4.3.3	Vaccinationsstatus.....	8
4.4	Verifierad diagnos och obduktionsresultat.....	8
5.	Diskussion	9
6.	Litteraturförteckning.....	13
7.	Tackord	16

1. Introduktion

Användningen av hösilage som fodermedel till hästar har ökat i Sverige. Anledningen till det är bland annat att det utgör ett mycket bra grovfoder och att man vid hösilageberedning inte är lika beroende av torrt och soligt väder som man är vid höberedning (24). Nomenklaturen är lite förvirrande runt begreppen hösilage och ensilage, ett samlingsnamn som också används är inplastat vallfoder. Det handlar i båda fallen om en naturlig ensileringsprocess som innebär att mjölksyrabakterier använder lättlösliga sockerarter som energi för att kunna producera laktat, dvs. mjölksyra i en anaerob miljö vilket leder till en pH-sänkning. För att processen ska kunna ske krävs förutom en anaerob miljö även att vattenhalten är tillräckligt hög. Vattenhalten i fodret beräknas indirekt genom torrsubstanshalten (ts-halten) som talar om hur stor del av ett kilogram foder som utgörs av själva fodret, resten av vikten är vatten. Enheten som används är procent, där gränsen brukar dras vid ungefär 50-55 % ts-halt (24). I takt med att hösilageanvändningen har ökat har också diskussionen om hösilage som en tänkbar smittkälla för botulism uppkommit. Detta då man vid utbrott av botulism bland mjölkkor utomlands har kunnat påvisa bakterien *Clostridium botulinum* (*Cl. botulinum*) i hösilage (37).

Historiskt sett har Sverige haft en bra situation avseende botulism och endast ett fåtal fall hos häst finns beskrivna i litteraturen. Det första fallet beskrevs 1962, där kunde ingen dysfagi ses hos de drabbade hästarna men den kliniska misstanken var ändå botulism. Neutralisationstest in vitro talade då för toxintyp C men diagnosen kunde aldrig bekräftas. En råttinvasion på gården misstänktes vara smittkällan (16). Vid årsskiftet 1973-1974 skedde ett stort utbrott vid Axevallas travbana där 15 hästar drabbades av svalgförlamning. Sjukdomsorsaken misstänktes vara botulinum- eller mykotoxin men diagnosen kunde inte säkerställas (4). Det senaste beskrivna utbrottet skedde 1991 då sju hästar på ett stuteri insjuknade, enbart en av dem överlevde. De hästarna gick på bete och tilläggsutfodrades med rundbalsensilage. Vid det utbrottet påvisades *Cl. botulinum* toxin typ B i serum hos en häst vilket verifierade diagnosen (9).

Den här retrospektiva studien syftar till att undersöka förekomsten av botulism hos hästar i Sverige samt se om en koppling finns till utfodring med hösilage.

1.1 Etiologi

Botulism orsakas av *Cl. botulinum*, en anaerob grampositiv sporbildande och toxinproducerande bakterie. Bakterien är ubikvitär vilket innebär att det bland annat finns sporer i jorden och bakterier kan förekomma normalt i gastrointestinalkanalen hos en del djurslag (23, 38). Bakterien bildar ett neurotoxin (exotoxin) som finns i åtta olika typer benämnda A, B, C₁, C₂, D, E, F och G. Toxinet bildas när det är gynnsamma förhållanden, dvs. i fuktig, anaerob miljö och med pH över 4,5. I en sur miljö hämmas sporuleringen

(37). Sporererna måste sporulera, vilket innebär att de övergår till en aktiv form, innan de kan producera toxin. Toxinet är ett av de mest potenta som finns och mycket små mängder krävs för att orsaka sjukdom/intoxikation (9, 10). Toxinet verkar presynaptiskt i perifera kolinerga motorändplattor och blockerar acetylkolinfrisättningen genom att binda irreversibelt till receptorer vilket resulterar i en slapp paralys (38). Eftersom det är en irreversibel bindning krävs regeneration av nya motorändplattor för att muskelfunktionen ska återfås vilket kan ta 4-10 dagar (19, 22, 39). Många däggdjursarter och även fåglar och fiskar kan insjukna i botulism (38). Hästar är extremt känsliga för toxinet och de kan drabbas av toxintyperna A, B och C (23, 26, 38). Toxintyp D har misstänkts vid en del utbrott på häst utomlands men misstanken har aldrig kunnat verifieras (18, 35). Utomlands är typ B vanligast och i Sverige är det den enda toxintyp som har påvisats hos häst (30, 38). Av toxintyperna är typ B vanligast när det är foder av dålig kvalitet som är orsaken medan toxintyp C mest förknippas med att det har kommit in ett kadaver i fodret (26, 28, 38). Mortaliteten är relaterad till toxindosen men är mycket hög. Ungefär 90 % av de hästar som drabbas av botulism dör trots att symptomatisk behandling ges (9, 37, 38).

1.2 Smittvägar

För botulism finns tre potentiella smittvägar. Den vanligaste vägen är via intag av preformerat toxin i foder av dålig hygienisk kvalitet (29, 38). Toxinet har antingen kontaminerat fodret eller bildats i fodret. Eftersom sporer finns i jorden kan de komma med i grovfodret när hövallen slås (29). Den anaeroba ensilageprocessen utgör en gynnsam tillväxtmiljö för *Cl. botulinum* och det gör att hösilage med ett pH på över 4,5 är en potentiell smittkälla (9, 28, 38). Även i annat foder som hö och havre kan sporulering ske om kvalitén är nedsatt och gynnsamma förhållanden finns. En ytterligare väg för toxin att bildas i hösilage är att döda djur, som till exempel sorkar och möss kommer med in i hösilagebalen och sedan plastas in. Det döda djuret kan ha bakterier i gastrointestinalkanalen som i kombination med den anaeroba miljön gör att risken för sporulering och utvecklande av toxin är stor (9).

Den andra smittvägen sker via ett oralt intag av sporer som sporulerar och etablerar sig i tarmen och där börjar producera toxin vilket ger en toxikoinfektion. Denna smittväg är vanligast hos föl och ger upphov till ett sjukdomstillstånd kallat "shaker foal syndrome". Vuxna individer drabbas i regel inte då den normala tarmfloran hämmar dessa sporer (26, 38). Nu finns det dock studier som indikerar att gräsbetessjuka skulle kunna vara en toxikoinfektion hos vuxna hästar orsakad av botulinumtoxin typ C (7, 15).

Den tredje smittvägen är via sårinfektioner, framför allt kastrationssår, navelbråcksoperationer och djupa sticksår där sporer kommer in genom sårkanalen och i den anaeroba miljön kan övergå till en vegetativ form och börja bilda toxin (9, 37, 38).

1.3 Klinisk symptombild

Hästar är mycket känsliga för toxinet och symptomen är hastigt insättande jämfört med hos nötkreatur. Toxindosen påverkar utvecklandet av symptom, ju mer toxin hästen har fått i sig, desto sämre blir prognosen (28, 37, 38). Inkubationstiden varierar alltifrån några timmar upp till 10 dagar (26, 28). De kliniska symptomen varierar beroende på vilket toxin som är orsaken, det är dock inte så stora skillnader att typ av toxin går att fastställa utifrån symptomen (26, 38, 39). Botulinumtoxinet angriper först de muskler som har störst mängd efferenta nerver och förloppet framskrider symmetriskt vilket gör att även symptomen förvärras symmetriskt (9, 22, 26, 38). Hos vuxna hästar börjar förloppet ofta med dysfagi och nedsatt träningstolerans som gradvis utvecklas till generell muskelsvaghet. Tidigt i sjukdomsutvecklingen ses muskelsvagheten främst som nedsatt tonus i tunga, ögonlock och svans. Allt eftersom sjukdomen progredierar utvecklas muskelfascikulationer som oftast börjar i tricepsmuskulaturen och sedan fortskrider till andra stora muskelgrupper (26, 28, 38). Muskelfascikulationer liksom svårighet att hålla upp huvudet anses höra ihop med botulism orsakad av typ C-toxin (38). Ofta kan dilaterade pupiller (mydriasis) och nedsatt pupillreflex ses. Ileus, coprostat och urinblåsedistension är andra vanligt förekommande symptom. Om smittdosen är tillräckligt hög utvecklas gradvis en paralys, hästen blir allt mer ovillig att resa sig och ligger i allt längre perioder, slutligen blir hästen liggande och kan inte resa sig (26, 28, 38). Först i slutstadiet påverkas de vitala parametrarna och hästen utvecklar tachykardi och dyspné. Dödsorsaken är antingen cirkulationssvikt eller paralys av andningsmuskulaturen (28, 38). Då sväljningsfunktionen är nedsatt är det vanligt att hästen utvecklar aspirationspneumoni sekundärt (28). Symptomen hos föl är i stort desamma som hos vuxna hästar men ett av de tidigaste symptom som uppmärksammas är ofta att fölet ligger ovanligt mycket och endast står korta stunder och då har muskeltremor (34, 38).

1.4 Diagnos

Den kliniska bilden är mycket specifik och diagnosen baseras därför oftast på de kliniska fynden även om det kan vara svårare i ett tidigt skede. Diagnosen kan verifieras genom påvisande av toxinförekomst. Eftersom toxinet är väldigt potent och hästar är mycket känsliga krävs små toxinnängder vilket gör att det är svårt att påvisa toxinet (28). Serum, organprov som lever eller mjälte och magsäcks-/tarminnehåll kan provtas. Vid analys av serum ska 4-5 blodprovsrör tas eftersom halterna i blodet är så låga (30). Rekommendationen är att ta prov från lever eller serum (21). Det enda som går att testa medan djuret är i livet är serum och faeces. I serum kan toxinet påvisas och i faeces kan sporer hittas. Då även en del friska hästar utsöndrar *Cl. botulinum*-sporer i faeces anses den metoden opålitlig och i Sverige används det därför inte som diagnostisk metod (11, 28, 34). En del studier hävdar dock att det är få friska hästar som utsöndrar sporer i faeces (26, 37, 38). Ytterligare en tillgänglig diagnostisk metod är att analysera det misstänkta fodret men det är svårt att få ett representativt

prov eftersom toxinet kan ha funnits enbart i ett visst parti av fodret (9, 38). Det kan också vara så att allt foder redan har konsumerats då symptomen kan komma många dagar efter att kontaminerat foder har intagits (9).

För att påvisa toxinförekomst används ett inokulationstest där möss injiceras intraperitonealt med extrakt framställt från provtagningsmaterialet alternativt med serum. Om toxinet finns utvecklar mössen getingmidja och dör därefter (11, 38). I Sverige är det enbart Statens Veterinärmedicinska Anstalt (SVA) som utför typning av toxin (1, 30). Obduktion kan inte användas för att verifiera diagnosen då botulinumintoxikation inte ger några specifika patologiska fynd, de enda förväntade fynden är sekundära förändringar som exempelvis aspirationspneumoni (38).

1.5 Behandling

Utomlands används både specifikt och polyvalent antitoxin med god effekt (8, 37, 38, 40). Det förutsätter dock att det ges tidigt i sjukdomsförloppet eftersom det bara är verksamt på fritt cirkulerande toxin (38). Studier har visat att mortaliteten hos föl minskar från 90 % till mindre än 20 % med antitoxin (8). Hos vuxna hästar är mortaliteten strax under 30 % om antitoxinet ges innan patienten har blivit liggande (37). I Sverige används enbart symptomatisk behandling (t ex intravenös vätska, intravenös antibiotikaterapi, förstahandsvalet är penicillin, samt kramplösande) (9). När botulism utvecklas av en sårinfektion är det viktigt att det även görs en sårexcision för att få bort bakterierna som bildar toxinet (3).

1.6 Profylax

Det finns ett vaccin mot toxintyp B (BotVax B) i Sverige. Grundvaccinationen är tre injektioner med fyra veckors mellanrum. Därefter ska revaccination ske årligen med max 15 månaders mellanrum. Om grundvaccineringen är korrekt gjord anses vaccinet i princip vara 100 % säkert och enligt Neogen Corporation (Tampa, Florida, USA) som tillverkar vaccinet har ingen häst med korrekt vaccinering blivit sjuk av botulism toxintyp B (38). Dräktiga ston bör vara grundvaccinerade och få sin årliga revaccination en till två månader innan förväntad fölning för att fölet ska få ett så bra skydd som möjligt (8, 38). Det finns idag inga multivalenta vacciner tillgängliga (37, 38).

2. Mål

Syftet med denna retrospektiva studie är att belysa botulismsituationen hos svenska hästar under tidsperioden 1995-2005 och ta reda på:

- Hur vanligt det är med botulism hos svenska hästar.
- I vilken utsträckning hästar med diagnosen botulism utfodras med hösilage.
- Hur många av hästarna i Sverige som vaccineras mot botulism och om någon av dessa har insjuknat i botulism.
- På vilka grunder diagnosen botulism ställts och i vilken utsträckning diagnosen har verifierats.

3. Material och metoder

Genomgång av journaler från landets djursjukhus med stationärvård (Universitetsdjursjukhuset Ultuna, Hästsjukhuset Strömsholm, Regiondjursjukhuset Helsingborg, ATG:s hästsjukhus Skara) mellan åren 1995-2005 har skett. Muntliga minnesuppgifter från Hallands djursjukhus AB avseende diagnosen botulism under åren 1995-2005 då de inte har ett system där diagnosen kan sökas. Databasen vet@webb har genom sökts under samma tidsperiod för att få uppgifter om antalet misstänkta botulismfall behandlade av distriktsveterinär. I denna databas går även fall från privatpraktiserande veterinärer att finna. Statistik över antalet fall anmälda till försäkringsbolagen Agria, Folksam, IF och Sveland under dessa år har inhämtats.

Statens jordbruksverk (SJV) statistik över anmälda fall granskades.

SVA och AnalyCen kontaktades angående obduktionsresultat och påvisande av toxinförekomst i fall där frågeställningen varit botulism under den aktuella tidsperioden.

Litteraturstudier inom ämnet gjordes.

4. Resultat

Sjukdomen är anmälningspliktig vid diagnos, det vill säga, om toxinet kan påvisas ska diagnosen anmälas. Även misstankar om botulism får anmälas till SJV, trots att diagnosen inte kan bekräftas. Mellan 1995-2005 har två fall anmälts till SJV, båda under 1998 (32).

4.1 Antal fall

Målet med studien var att undersöka åren 1995-2005 men den möjligheten begränsas av att inte alla av de använda källorna har dataregister från så lång tid tillbaka.

Djursjukhus	Data från tidsperioden	Antal fall
ATG:s hästsjukhus Skara	okt 1999-2005	4
Hallands djursjukhus AB	Minnesuppgifter	2
Hästsjukhuset Strömsholm	1995-2005	10
Regiondjursjukhuset Helsingborg	1999-2005	14
Universitetsdjursjukhuset Ultuna	1995-2005	4
Totalt:		34
Vet@webb		
Distriktsveterinärer	1999-2005	24
Privatpraktiserande veterinärer	1999-2005	13
Totalt:		37
Försäkringsbolag		
Agria	1995-2005	44
Folksam	1999-2005	13
IF	1997-2005	4
Sveland	1995-2005	4
Totalt:		65

Tabell 1. Fördelning över antalet fall av botulism hos de olika källorna samt under vilken tidsperiod fallen har skett.

Till djursjukhusen har 34 fall inkommit och i vet@webb finns 37 fall rapporterade. Vid genomgång av journalerna från djursjukhusen finner man att 11 av hästarna har blivit inremitterade av annan veterinär och dessa fall finns sannolikt med i statistiken både från djursjukhusen och vet@webb. Det ger totalt 60 behandlade hästar. Till försäkringsbolagen har 65 hästar anmälts för veterinärvårdsersättning och/eller livskadeanmälan. I journalerna från djursjukhusen finns tre hästar angivna som oförsäkrade vilket ger, om man antar att alla försäkrade hästar återfinns i statistiken för djursjukhusen eller i vet@webb, resultatet att 68 hästar har diagnostiserats med botulism under den undersökta tidsperioden. Enligt journaldata och minnesuppgifter har ytterligare totalt ca nio hästar med liknande symptom dött eller nödslaktats på samma anläggning som den behandlade patienten. Om dessa hästar har undersökts av veterinär framgår inte av journalerna.

	-95	-96	-97	-98	-99	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Djursjukhus											
Skara						0	1	2	0	0	1
Strömsholm	0	0	0	2	1	0	1	2	0	2	2
Helsingborg					0	0	2	8	3	0	1
Ultuna	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
Vet@webb											
Distriktsvet.					2	3	1	8	6	2	2
Privatpraktiker					0	0	2	8	2	1	0
Försäkringsbolag											
Agria	4	1	1	4	7	0	4	5	7	3	8
Folksam					1	2	1	5	1	1	2
IF			0	3	0	1	0	0	0	0	0
Sveland	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1

Tabell 2. Antal fall/år hos respektive djursjukhus, distriktsveterinärer, privatpraktiserande veterinärer och hos försäkringsbolagen.

Fallen från Hallands djursjukhus AB är inte inkluderade i tabellen. Enligt muntliga uppgifter har de haft två fall under de senaste tio åren, ett av dessa fall var för 6-7 år sedan (1999-2000) och där fanns enbart en klinisk misstanke, diagnosen verifierades inte. Det andra fallet inträffade för ca 3 år sedan (2003), då inkom en häst till kliniken och ytterligare ca sju hästar dog på samma gård. Det fanns en klinisk misstanke om botulism men diagnosen kunde inte bekräftas (12).

År 1999, 2002, 2003 och 2005 är de år då flest fall finns rapporterade.

160 000 – 170 000 av Sveriges 271 000 hästar är försäkrade vilket motsvarar omkring 60 % (27, 31).

4.2 Prognos för överlevnad

Av patienterna med misstänkt botulism som inkom till djursjukhusen överlevde 11,8 %. Enligt journaldata uppvisade 75 % av dessa enbart lindriga kliniska symptom. Ingen uppgift finns i journalerna om att någon av de överlevande skulle ha varit vaccinerad mot botulism.

4.3 Kliniska fynd

4.3.1 Blodbildsförändringar

Blodprover analyserades på ungefär hälften av patienterna inkomna till djursjukhus. De prover som har tagits är huvudsakligen infektionsparametrar men även klinisk kemi. Inga enhetliga fynd finns i blodbilden men de parametrar som var förändrade i ett flertal fall var fibrinogen som var förhöjt hos 26,7 % av de provtagna individerna,

lymfopeni som återfanns hos 60 % av hästarna och hos 53 % sågs en monocytos. Därutöver var CK förhöjt hos ett fåtal hästar.

4.3.2 Foder

Av Sveriges 271 000 hästar antas mellan 40 till 60 % äta hösilage enligt de mindre undersökningar som finns gjorda (14, 20, 25).

I 56 % av journalerna från djursjukhusen finns det angivet vilket grovfoder patienten fick, av dessa har samtliga angivit hösilage.

4.3.3 Vaccinationsstatus

Journalerna från djursjukhusen är ofullständiga angående vaccinationsstatus, i 44 % av fallen är vaccinationsstatus noterat i journalen. 79 % av dessa hästar var ovaccinerade mot botulism. Hos de resterande 21 % av fallen, vilket motsvarade tre hästar var en grundvaccinering påbörjad men hade inte hunnit fullföljas. Dessa tre hästar hade alla fått två injektioner vardera, ingen av dem överlevde. I det genomsökta materialet finns inte någon häst angiven som fullständigt vaccinerad.

Exakt hur många hästar som vaccineras mot botulism i Sverige går inte att få reda på men enligt SVA som säljer vaccinet i Sverige vaccineras ungefär hälften av dem som äter hösilage. Det innebär ungefär 54 000 - 81 000 hästar.

4.4 Verifierad diagnos och obduktionsresultat

SVA är det enda laboratoriet i Sverige som påvisar och typar botulinumtoxin. Till dem skickas det årligen in mellan 0-5 prover med frågeställningen botulism. Det antal man lyckas verifiera ligger mellan 0-5 fall per år, oftast lyckas man inte verifiera något fall alls.

Av de 34 fall inkomna till djursjukhus har man hos 12 individer försökt finna sjukdomsorsaken genom obduktion och/eller provtagning av serum eller organ, för att påvisa botulinumtoxin. Sju individer har provtagits och sju har obducerats. Hos resterande fall är diagnosen enbart ställd på klinisk misstanke. Toxinet kunde inte påvisas i något av de provtagna fallen. De flesta av obduktionerna har dock inte kunnat utesluta diagnosen, det vill säga, det rör sig om negativ sektion eller enbart ospecifika fynd vilka i sig kan förkomma vid botulism som exempelvis aspirationspneumoni. I ett fall visade obduktion en enterit och toxinemi och botulism ansågs mindre troligt som sjukdomsorsak. Dock så talade den kliniska bilden starkt för botulism. Foderanalyser på spannmål och hösilage har gjorts vid ett tillfälle, då upptäcktes *Aspergillus fumigatus* i både hösilaget och spannmålet och den stam som hittades i hösilaget hade en förmåga att bilda mykotoxinet gliotoxin samt att verka cytotoxiskt och neuritdegenererande. Även den funna stammen i spannmålet hade cytotoxiska effekter. Slutsatsen drogs att det kunde vara detta mykotoxin som låg bakom sjukdomen. Utifrån de kliniska fynden går det inte att utesluta botulism. Patologiskt gjordes inga specifika fynd hos de hästar som obducerades och som hade fått detta foder och utvecklat sjukdom.

5. Diskussion

Enligt denna studie är det 68 hästar som har diagnostiserats med botulism under de studerade åren. Är det ett med sanningen överensstämmande antal fall? Det finns flera felkällor att ta hänsyn till och med anledning av dessa är det sannolikt att det finns fler hästar där den kliniska misstanken har varit botulism än vad den här studien visar.

Anledningen till att det finns fler hästar registrerade med diagnosen botulism hos försäkringsbolagen än vad som finns registrerat hos djursjukhusen och i vet@webb beror sannolikt på att en del hästar har behandlats i fält av privatpraktiserande veterinärer som inte har registrerat fallet. Detta då privatpraktiker enbart har rapporteringsplikt vid vissa specifika behandlingar och rapporteringen från privatpraktiserande veterinärer dessutom är bristfällig (32). Eftersom ca 60 % av Sveriges hästar beräknas vara försäkrade innebär det att 40 % är oförsäkrade och inte finns med i statistiken från försäkringsbolagen. Förutsatt att det undersökta materialet är representativt för incidensen botulism i den svenska hästpopulationen innebär det att det skulle kunna finnas ca 45 hästar till som har drabbats av botulism under den här tidsperioden. Siffran skulle då bli 110-115 hästar där den kliniska misstanken varit botulism, vilket motsvarar 0,04 % av hästpopulationen i Sverige.

De nio hästar som enligt journalanteckningar har dött eller nödslaktats hemma med botulismliknande symptom talar för att det sannolikt finns en kategori hästar som uppvisat liknande symptom men som inte undersökts av veterinär och inte fått någon diagnos. Detta skulle betyda att det verkliga antalet kanske är ännu högre än 115 hästar. I denna studie har dessa nio hästar ej inkluderats.

En ytterligare faktor som kan tala för att antalet misstänkta botulismfall är högre än vad den här studien visar är möjligheten att de inte har fått diagnoskoden botulism utan någon annan diagnos som exempelvis CNS-störning, paralyt eller svaljförslamning. Den hypotesen undersöktes i studien genom att en del journaler med diagnosen svaljförslamning/larynxförslamning från Universitetsdjursjukhuset Ultuna och ATG:s hästsjukhus Skara granskades. Inte i något av de fallen överensstämde symptombilden med botulism. Det utesluter inte att det kan finnas fall där andra diagnoser kan ha använts.

Det finns dock faktorer som motsäger att fler fall finns än vad studien har visat. De hästar som har blivit behandlade av veterinär på djursjukhus kan vara samma individer som redan finns med i statistiken från distriktsveterinärer och privatpraktiker eftersom de kan ha blivit inremitterade utan att det har skrivits in i journalen. Det skulle då innebära att de av misstag har räknats med två gånger. Fallen tagna ur försäkringsbolagens statistik kan ge ett falskt högt antal fall då det är möjligt att få veterinärvård utbetalad vid mer än ett tillfälle med samma diagnos.

Det faktum att antalet kliniskt misstänkta fall troligen är högre än vad studien visar innebär inte att det verkliga antalet fall av botulism är lika högt. Det mest sannolika är att fler individer har fått diagnosen än vad det är hästar som verkligen har haft sjukdomen. Utifrån de i litteraturen vanligaste

beskrivna kliniska symptomen vid botulism och med hänsyn till provresultat har en sannolikhetsindelning på de 32 tillgängliga journalerna gjorts på huruvida diagnosen är riktig. De tre kategorierna är "sannolik botulism", "gråzon" och "sannolikt inte botulism". Det ska tilläggas att bedömningen enbart skett utifrån journalerna och obduktions- och provtagningsresultat. Hade bedömningen gjorts i verkligheten hade slutsatserna möjligen blivit annorlunda. 24 fall bedöms sannolikt vara botulism, 6 av fallen befinner sig i en gråzon och 2 fall bedöms sannolikt inte vara botulism då de inte uppvisat de klassiska symptomen.

Om det här skulle vara en korrekt uppskattning innebär det att 6 % av de hästar som inkommit till djursjukhusen har fått botulism som diagnos utan att detta varit den korrekta sjukdomsorsaken.

De rutinmässiga blodprover som tas är inte till någon hjälp i diagnosställandet då inga enhetliga blodbildsförändringar kan ses enligt litteraturen vilket också var fallet i denna studie. De förändringar som kan ses är sannolikt relaterade till stress eller andra sekundära tillstånd som inflammatoriska processer. Den CK-höjning som ses hos ett fåtal individer finns beskrivet vid botulism och beror sannolikt på en ischemisk myopati som uppkommer till följd av att hästen har blivit liggande (23).

De differentialdiagnoser som finns nämnda i journalerna är gräsbetessjuka och mykotoxinförgiftning, de diagnoserna har inte vare sig verifierats eller uteslutits. I tre fall talade foderanalyser för en mykotoxinförgiftning men botulism gick å andra sidan inte att utesluta.

Det är värt att notera att det inte i något av de sju provtagna fallen gick att påvisa toxinet. De slutsatser man kan dra av detta är att det antingen rör sig om så väldigt låga toxinnivåer, vilket är möjligt då det är ett extremt potent toxin, att det befintliga musinokulationstestet inte fungerar eller så har sjukdomsorsaken inte varit botulism. Det är egentligen oväsentligt hur många som har verifieras i och med att det krävs så små doser toxin för att orsaka sjukdom och det gör att toxinnivån kan vara under detektionsgränsen.

På SVA pågår det forskning för att ta fram nya diagnostiska metoder, dels en PCR som ska detektera antigenet, dvs. bakterien. Eftersom det är toxinet som måste detekteras för verifierad diagnos är detta inte en säker diagnostisk metod för enskilda fall. Metoden kommer ändå ha sin plats i diagnostiken eftersom den kan användas för epidemiologiska studier, man kommer förhoppningsvis att kunna hitta varifrån i omgivningen som bakterierna har sitt ursprung (6, 36). En masspektrometri där enzymaktiviteten hos de enskilda toxintyperna kan mätas är en annan metod som är under utprovning. Metoden har ännu inte testats på mer än ett fåtal kliniska prover så det återstår att se om den fungerar i praktiken där ospecifika enzymer kan störa mätmetoden. Om sensitiviteten kommer att bli högre med den här metoden är ännu inte klarlagt men den har andra fördelar jämfört med inokulationstestet då den är snabbare samt att inga djur behöver användas i diagnostiken (5, 13, 17).

Då försök att påvisa bakterien och toxinet endast görs på SVA i Uppsala är det en faktor som sannolikt har haft betydelse för att så få fall har obducerats och provtagits. Obduktion i sig kan inte verifiera diagnosen utan

måste kombineras med provtagning. En annan faktor att ta hänsyn till är att om diagnosen är botulism är obduktion onödig. Enligt journalerna är det enbart Regiondjursjukhuset i Helsingborg som har gjort egna obduktioner. Hästsjukhuset Strömsholm och Universitetsdjursjukhuset Ultuna har skickat till obduktion på SVA. Serum är det lättaste provet att ta och det borde vara möjligt att analysera i fler fall än vad som har gjorts. Det är dock svårt att påvisa toxin i blod eftersom halterna är så låga vilket innebär att en stor volym blod måste tas, 4-5 blodprovsrör rekommenderas. Den låga sannolikheten att lyckas påvisa toxin i blod kan vara anledningen till att det så sällan har undersökts.

Enbart två av alla dessa fall är anmälda till SJV, ett av dem sannolikt enbart grundat på den kliniska misstanken trots att fallen ska vara verifierade för att hamna i statistiken (32). Det här visar att Jordbruksverkets statistik inte överensstämmer med den verkliga siffran över antalet kliniskt misstänkta fall men däremot stämmer bra överens med antalet verifierade fall.

En del är utmärker sig genom att fler fall har skett då. Anledningen till det kan vara faktorer som regniga somrar som har försvårat skörden och gett en sänkt hygienisk kvalitet både på hösilage och hö men det kan också vara en ren slump. I takt med att hösilage har blivit ett vanligare grovfodermedel har informationen om hur hösilage ska hanteras ökat vilket borde minska risken för att det skördas på fel sätt. Följden av regniga och ogynnsamma somrar kan dock bli att skördeförhållandena försämras vilket leder till att kvalitén på grovfodret riskerar att sjunka och om efterfrågan är större än tillgången på bra grovfoder så finns risken att grovfoder av dålig hygienisk kvalitet används.

Det faktum att en stor andel av Sveriges hästar vaccineras mot botulism borde även det resultera i att antalet fall minskar men det går inte att dra några slutsatser om det i den här studien eftersom botulismvaccinet har funnits i Sverige sedan 1997 (33). Det är också möjligt att det är fel toxintyp och att vaccinet därför inte har någon effekt eller att det är toxintyp B men att vaccinet inte ger fullt skydd förrän en ordentlig grundvaccinering är genomförd. Det är möjligt att antalet fall av botulism skulle ha varit ännu högre om inte en del av hästarna i Sverige vaccinerades mot botulism.

Andra tänkbara orsaker till att antalet fall varierar mellan åren kan vara att diagnosen inte alltid är korrekt men det kan också vara så att det i en del fall finns någon annan smittokälla än hösilage.

Det är en stor andel av hästarna i Sverige som vaccineras mot botulism i dag, hälften av dem som äter hösilage antas vaccineras enligt uppgift från SVA. Att tre av de patienter som dog av botulism var vaccinerade två gånger vardera är i sig av intresse. Det finns flera tänkbara orsaker till att ingen skillnad går att se gällande symptombild och mortalitet mellan de vaccinerade jämfört med de ovaccinerade.

- Toxinet är så potent att enstaka vaccinationer inte räcker till.
- Ej toxin B.
- Vaccineringen är inte korrekt genomförd.
- Diagnosen var felaktig.

Antitoxin tycks vara den behandling som måste användas om patienten ska ha någon större chans att överleva, det finns polyvalent antitoxin mot botulism typ A, B och E tillgängligt på generell licens hos apoteket C W Scheele i Stockholm men kostnaden för antitoxinet är mycket hög, 10 ml kostar 32 667 kr (2, 37). Den rekommenderade dosen till en vuxen häst är 500 ml som engångsdos (38). Det innebär att behandlingen med antitoxin skulle kosta drygt 1,6 miljoner kr vilket gör det i praktiken omöjligt att använda den här behandlingen till häst.

Det skulle vara intressant med en uppföljning av denna studie för att få en uppfattning över hur utvecklingen går, om profylax i form av vaccinering hjälper och antalet fall minskar eller om de fortsätter att fluktuera. Förhoppningsvis ska utvecklingen av nya diagnosmetoder göra att fler fall går att verifiera.

Resultatet av den här studien talar för att:

- Risken att drabbas av botulism är väldigt liten, enbart 0,03 % av Sveriges hästpopulation har drabbats under de granskade åren. I samtliga fall som inkommit till djursjukhus har diagnosen ställts kliniskt och inte i något av de fall där diagnosen har försökt verifieras genom påvisande av toxin har man lyckats.
- Hos samtliga patienter inkomna till djursjukhus där grovfoder finns angivet i journalen är det hösilage som uppgivits som grovfoderkälla vilket talar för att det finns en koppling mellan hösilage och en ökad risk för den kliniska misstanken om botulismintoxikation.
- Ingen av de patienter som inkommit till djursjukhus var fullgott vaccinerad mot botulism, däremot var tre individer grundvaccinerade två gånger vardera och de dog alla, trots vaccination.
- Antalet anmälda fall till SJV är mycket lågt i förhållande till det antal fall med klinisk misstanke som finns.

6. Litteraturförteckning

1. AnalyCen. Telefonsamtal med bl a Kerstin Ortman.
2. Apoteket Ultuna, Uppsala. Personligt samtal 17/11-06.
3. Bernard, W., Divers, T. J., Whitlock, R. H., Messick, J. & Tulleners, E. (1987) Botulism as a sequel to open castration in a horse. J. Am. Vet. Med. Assoc. 191 (1), 73-74.
4. Björk, G., Garmer, L. & Magnusson L.-E. (1974) Svalgförlamning på hästar vid Axevalla travbana. Svensk Vet. Tidn. 26 (5), 169-172.
5. Boyer, A. E., Moura, H., Woolfitt, A. R., Kalb, S. R., McWilliams, L. G., Pavlopoulos, A., Schmidt, J. G., Ashley, D. L. & Barr, J. R. (2005) From the mouse to the mass spectrometer: detection and differentiation of the endoproteinase activities of botulinum neurotoxins AG by mass spectrometry. Anal. Chem. 77 (13), 3916-3924.
6. Båverud, Viveca. Veterinär vid SVA. Telefonsamtal nov 2006.
7. Böhm, H., Wernery, U. & Gessler, F. (2003) Two cases of equine grass sickness with evidence for soil-borne origin involving botulinum neurotoxin. J. Vet. Med. B 50, 178-182.
8. Crane, S. A. (1991) Field management of two foals with suspected botulism. Equine vet. Educ. 3 (4), 184-186.
9. Franzén, P., Gunnarsson, A. & Gustafsson, A. (1992) Botulism hos häst relaterad till utfodring med rundbalsensilage. Svensk Vet. Tidn. 44 (13), 555-559.
10. Galey, F. D. (2001) Botulism in the horse. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 17 (3), 579-588.
11. Gunnarsson, Anders. Veterinär vid SVA. Telefonsamtal.
12. Hallands djursjukhus AB. Telefonsamtal med anställda veterinärer.
13. Hedeland, Mikael. Veterinär vid SVA. Telefonsamtal nov 2006.
14. Holmquist, S. (2000) Vallfoderrelaterade problem vid utfodring av hästar. Inst. för husdjurens utf. och vård. Examensarbete 142, 31-32.
15. Hunter, L. C., Miller, J. K. & Poxton, I. R. (1999) The association of *Clostridium botulinum* type C with equine grass sickness: a toxicoinfection? Equine vet. J. 31 (6), 492-499.
16. Johannsen, A. (1962) Ett utbrott av botulism hos häst. Medlemsblad för Sveriges veterinärförbund 6, 157-164.
17. Kalb, S. R., Moura, H., Boyer, A. E., McWilliams, L. G., Pirkle, J. L. & Barr, J. R. (2006) The use of Endopep-MS for the detection of botulinum toxins A, B, E and F in serum and stool samples. Anal. Biochem. 351, 84-92.
18. Kelly, A. P., Jones, R. T., Gillick, J. C. & Sims, L. D. (1984) Outbreak of botulism in horses. Equine vet. J. 16 (6), 519-521.
19. Kinde, H., Bettey, R. L., Ardans, A., Galey, F. D., Daft, B. M., Walker, R. L., Eklund, M. W. & Byrd, J. W. (1991) *Clostridium botulinum* type-C intoxication associated with consumption of processed alfalfa hay cubes in horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 199 (6), 742-746.

20. Lindvall, E. (2000) Attityder till inplastat vallfoder, en jämförelse mellan några ridskolor i Dalarna och Skåne. Enheten för hippologisk högskoleutbildning. Examensarbete 107.
21. Mainil, J., Duchesnes, C., Pelkonen, S., Dubreuil, L. & Menozzi, M. G. (Eds.) (2004) Identification, typing and antibiotic resistance of the genus *Clostridium* [online] Liège, Belgien. Tillgänglig: <http://www.genusclostridium.net/scbooklet3.pdf> [2006-11-21]
22. Malikides, N., Rose, R. J. & Hodgson, D. R. (1993) Diseases of the peripheral nerves and muscles. In: Rose, R. J., Hodgson, D. R. (Eds.) *Manual of equine practice*. 2nd ed. 547-550. Philadelphia. Saunders.
23. McGavin, M. D. & Valentine, B. A. (1988) Muscle. In: McGavin, M. D., Carlton, W. W. & Zachary, J. F. (Eds.) *Thomson's Special Veterinary Pathology*. 3rd ed. 479. St. Louis, Missouri. Mosby, Inc.
24. Müller, C. Inplastat vallfoder till hästar – smakliga möjligheter eller hygieniska begränsningar? Kungsängendagarna 2004, rapport 258. Inst. för HUV, SLU, Uppsala. 37-42. ISSN 0347-9838.
25. Möller, J. (2000) Vitamin A och E i relation till hästutfodring. Inst. för husdjurens utf. och vård. Examensarbete 212, 24.
26. Reed, S. M. (1998) Botulism. In: Reed, S. M., Bayly, W. M. & Sellon, D. C. (Eds.) *Equine internal medicine*. 2nd ed. 650-652. St. Louis, Missouri. Saunders.
27. Regeringskansliet. (2004-03-18) En svensk hästpolitik. [online] Tillgänglig: <http://finans.regeringen.se/content/1/c6/01/21/47/b1cc22eb.pdf> [2006-11-21]
28. Renninger, M. L. & Hooser, S. B. (1983) Botulism. In: Robinson, N. E. (Ed.) *Current therapy in equine medicine* 5. 799-801. St. Louis, Missouri. Saunders.
29. Ricketts, S. W., Greet, T. R. C., Glyn, P. J., Ginnett, C. D. R., McAllister, E. P., McCaig, J., Skinner, P. H., Webbon, P. M., Frape, D. L., Smith, G. R. & Murray, L. G. (1984) Thirteen cases of botulism in horses fed big bale silage. *Equine vet. J.* 16 (6), 515-518.
30. Roneus, Merike. Statsveterinär vid SVA. Telefonsamtal.
31. Statens jordbruksverk. Hemsida. [online] (2004-12-08) Det finns 271 000 hästar i Sverige. Tillgänglig: <http://www.sjv.se/presskontakten/pressmeddelanden/pressmeddelanden/5.12022b71008e0e5daa800025877.html> [2006-11-21]
32. Statens jordbruksverk. Personlig kommunikation med bl. a Nils-Åke Fag, Inger Nilsson, Ami Jönsson, Lisa Schelin.
33. Statens Veterinärmedicinska Anstalt, orderavdelningen. Telefonsamtal dec 2006.
34. Swerczek, T. W. (1980) Toxicoinfectious botulism in foals and adult horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 176 (3), 217-220.
35. Switzer, J. W., Jensen, M., Riemann, H. P. & Airola, W. A. (1984) An outbreak of suspected type D botulism in horses in California. *California Veterinarian* 7, 14-17.

36. Szabo, E. A., Pemberton, J. M., Gibson, A. M., Thomas, R. J., Pascoe, R. R. & Desmarchelier, P. M. Application of PCR to a clinical and environmental investigation of a case of equine botulism. (1994) J. Clin. Microbiol. 32 (8), 1986-1991.
37. Whitlock, R. H. (1990) Botulism in large animals. Proc. 8th ACVIM forum Washington DC, 681-683.
38. Whitlock, R. H. (1990) Botulism (Shaker foals, Forage poisoning). In: Smith, B. P. (Ed.) *Large animal internal medicine*. 3rd ed. 1003-1008. St. Louis, Missouri. Mosby Inc.
39. Whitlock, R. H. & Buckley, C. (1997) Botulism. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 13 (1), 107-128.
40. Wilkins, P. A. & Palmer, J. E. (2003) Botulism in foals less than 6 months of age: 30 cases (1989-2002). J. Vet. Intern Med. 17, 702-707.

7. Tackord

Jag vill rikta ett stort tack:

Till Marie Westberg på Hästsjukhuset Strömsholm, Björn Bäckman och Yvonne Andersen på ATG:s hästsjukhus Skara, Jan Skidell på Helsingborgs djursjukhus, veterinärerna på Hallands djursjukhus AB, Malin Persson och personalen i centralarkivet på Universitetsdjursjukhuset Ultuna som hjälpte mig att få tag i alla journaler.

Till försäkringsbolagen IF, Agria, Folksam och Sveland.

Till personalen på AnalyCen.

Till Merike Roneus, Mikael Hedeland, Viveca Båverud och Anders Gunnarsson samt övrig personal på SVA som ställt upp och svarat på mina frågor.

Till flertalet personer på Statens jordbruksverk för hjälp med informationssökande.

Till Cecilia Müller, SLU som har bidragit med tips, artiklar och fakta om hösilagetillverkning.

Till Johanna Penell, SLU som glatt svarat på mina frågor.

Till Djurapoteket Ultuna.

Till Agneta Gustavsson och Johan Bröjer för att de kom på idén till arbetet.

Till min datasupport Roger Muhrman, utan dig hade det inte blivit något arbete.

Till min pojkvän Rickard Noberius för att du finns.

Slutligen...

Ett jättestort tack till min handledare Kia Nostell för all ovärderlig hjälp och för att du fick mig att tycka att det fortfarande var kul när jag helst av allt ville stänga av datorn.